

# "Genotipificación de *Mycobacterium tuberculosis* complex mediante herramientas moleculares"

## Resumen

En los últimos años se han desarrollado diversas técnicas de genotipificación para aislados de *Mycobacterium tuberculosis* complex (MTBC) que han demostrado tener un alto poder discriminatorio. En este estudio, tras identificación de las cepas seleccionadas al nivel de especie mediante la técnica comercial GenoType® MTBC, se ha evaluado la utilidad de la técnica simplificada del Polimorfismo de Longitud de Fragmentos Amplificados (AFLPs) y la técnica de Unidades Repetitivas Intercaladas Micobacterianas (MIRU-15). Se analizaron un total de 131 aislados clínicos de los cuales 68 aislados fueron recolectados en Ecuador, provenientes tanto del Laboratorio Clínico del Hospital Alli Causai ubicado en la ciudad de Ambato, provincia de Tungurahua como del Laboratorio de Bacteriología del Hospital Carlos Andrade Marín ubicado en la ciudad capital Quito, provincia de Pichincha. Los 63 aislados restantes fueron recolectados en España y pertenecían colección de microorganismos de los Servicios de Microbiología del Consorcio Hospital General Universitario y Hospital Clínico Universitario de la ciudad de Valencia, provincia de Valencia. De éstos aislados, 126 fueron identificados por métodos convencionales y moleculares como MTBC, correspondientes a 106 pacientes. La cepa control *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 25177 también fue identificada como tal mediante este método.

La técnica AFLPs permitió agrupar a las cepas en doce patrones (P1 a P8, P10, P12, P13, P14), de los cuales los más prevalentes fueron los patrones P1 y P2 con 77 (61,1%) y 27 (21,4%) aislados respectivamente, lo que supone el 82,5% del total de los mismos. Le siguieron en frecuencia el patrón P5 con 5 (3,9%) aislados, los patrones P3, P4 y P6 agruparon a 3 aislados cada uno (2,4%), los patrones P8 y P12 con 2 aislados (1,6%) y finalmente los patrones P7, P10, P13 y P14 con 1 aislado cada uno (0,8%). La cepa control *M. tuberculosis* ATCC 25177, mostró un perfil de restricción que no permitió su inclusión en ninguno de los patrones descritos. El poder discriminatorio del método (HGDI) fue de 0,5812 frente a 0,9843 de la técnica MIRU-15, que agrupó a 69 cepas (54,8%) en 20 complejos clonales y 57 patrones únicos (45,2%). Para el caso de España, las cepas estuvieron relacionadas en su mayoría con el linaje 4 o Euro-Americano que incluye: Cammeroon (1,59%), Haarlem (36,51%), S (31,75%), y LAM (19,05%); el linaje 6 o West Africa I (9,53%), el linaje 1 o EIA (1,59%), Para el caso de Ecuador las cepas estaban relacionadas con el linaje 4: Haarlem (42,86%), S (33,33%), y LAM (22,22%) y el linaje 2 Beijing (1,59%) originario de Asia. La técnica MIRU-VNTR (15 loci) demostró ser un sistema estable, reproducible y con un poder discriminatorio alto en comparación con AFLPs lo que permitiría emplearlo para realizar estudios poblacionales prospectivos con la finalidad de contribuir a los programas de Salud Pública para el control de la Tuberculosis (TB).

**Palabras clave:** AFLP, MIRU-VNTR, genotipificación, *Mycobacterium tuberculosis*, linaje